植物分类学报 42(6):481－499(2004)
Acta Phytotaxonomica Sinica

点地梅属的分子系统学、生物地理学和垫状形态的趋同进化

[1]王玉金 [1]李小娟 [2]郝刚 [3,1]刘建全*

[1](中国科学院西北高原生物研究所青藏高原生物进化与适应开放实验室 西宁 810008)
[2](中国科学院华南植物园 广州 510620)
[3](兰州大学干旱与草地生态学重点实验室 兰州 730000)

Molecular phylogeny and biogeography of *Androsace* (Primulaceae) and the convergent evolution of cushion morphology

[1]WANG Yu-Jin [1]LI Xiao-Juan [2]HAO Gang [3,1]LIU Jian-Quan*

[1](*Qinghai-Tibet Plateau Biological Evolution and Adaptation Laboratory*, *Northwest Plateau Institute of Biology*, *the Chinese Academy of Sciences*, Xining 810008, China)
[2](*South China Botanical Garden*, *the Chinese Academy of Sciences*, Guangzhou 510620, China)
[3](*Key Laboratory of Arid and Grassland Ecology*, *Lanzhou University*, Lanzhou 730000, China)

Abstract *Androsace* L. consists of more than 100 species distributed mainly in northern temperate areas. This genus, typically characterized by having small flowers with a constricted corolla throat, was subdivided into six sections: sect. *Samuelia* Schlechtd., sect. *Mirabiles* (Hand.-Mazz.) Yang & Huang, sect. *Androsace*, sect. *Chamaejasme* Koch., sect. *Aizoidium* Hand.-Mazz., and sect. *Orthocaulon* Hand.-Mazz. In this genus, the species with cushion-like growth belong to sect. *Chamaejasme* occurring in alpine habitats. There are other three small genera in the tribe *Androsaceae*. *Pomatosace* Maxim., with only one species, *P. filicula* Maxim., endemic to Qinghai-Tibetan Plateau, is traditionally placed in the subtribe Soldanellinae because of its circumscissile capsules, but other morphological characters and the recently reported evidence from cytology indicate that its affinity is closer with *Androsace*. *Douglasia* Lindley has eight homogeneous species in Northern American mountains. *Vitaliana* Sesler, with only one species in the European Alps, is usually considered a congener of *Douglasia*. These four genera, morphologically similar in having small flowers with a constricted corolla throat and "*Androsace* pollen", referred here as "*Androsace* group", are disjunctly distributed from the Qinghai-Tibetan Plateau, to Central- and Northern-Asia, Europe and North America. It is an ideal group to elucidate the origin and dispersal patterns of the Northern Hemisphere flora, which has a distribution center in the eastern Qinghai-Tibetan Plateau and the Hengduan Mountains. In addition, the habits of this group range from annuals to rosette perennials and cushion-like perennials. The cushion-like species are disjunctly distributed in the central Qinghai-Tibetan Plateau and European Alps mountains. Further studies are needed to determine whether they are closely related to each other or it is only the result of convergent evolution

---

2004-03-10 收稿，2004-08-02 收修改稿。

基金项目：中国科学院知识创新工程方向性项目(KSCX-SW-106)；全国博士学位论文作者专项基金；国家自然科学基金(30000012)资助 (Supported by a Knowledge Innovation Project of the Chinese Academy of Sciences (Grant. No KSCX-SW-106), Foundation for the Author of National Excellent Doctoral Dissertation of China (Grant No. 200327) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 30000012))。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: liujq@mail.nwipb.ac.cn)。

under the habitat pressure selection in separate sites.

We firstly reported cpDNA *trn*L-F, nrDNA ITS sequences respectively or both for 29 populations of 14 species in *Androsace* and *Pomatosace* mainly from the central Qinghai-Tibetan Plateau. A phylogeny was further constructed for these species, and those distributed in Europe and North America in" *Androsace* group "and related genera in Primulaceae based on newly reported sequences and those downloaded from GenBank. Phylogenetic inferences indicated that the four genera in" *Androsace* group "form a well-supported monophyletic clade. Two main clades were discovered in the " *Androsace* group ": a wholly *Androsace* clade, and the other comprising *Pomatosace*, *Douglasia*, *Vitaliana* and nine *Androsace* species in all analyses. The grouping and position of three species of sect. *Samuelia* and two species of sect. *Androsace* varied according to the analyses of the different datasets, *trn*L-F, ITS or a combination of them. The biogeographical mapping of species distribution revealed that the basal species of each clade sited in southeastern China and the eastern Qinghai-Tibetan Plateau, which obviously supports the origin area hypotheses for" *Androsace* group " based on morphological studies. From the eastern Qinghai-Tibetan Plateau multiple lineages spread to and colonized Europe in different ages. The crude timing based on ITS sequence differentiation indicated a recent diversification of" *Androsace* group "within Miocene of the Tertiary. The cushion-like species evolved independently in Asia and Europe. The origin and diversification of cushion-like species in the Qinghai-Tibetan Plateau might be earlier than those in Europe. Their occurrence in the Qinghai-Tibetan Plateau area might be correlated with the large-scale uprising of the plateau and the mountains building since Miocene. But the appearance of the cushion-like species in Europe might result from the fast habitat isolation due to the climate oscillation and the cycles of developing and retreating of the ice sheet in the Northern Hemisphere during the Quaternary. The large-scale colonization of cushion-like *Androsace* species in the Qinghai-Tibetan Plateau probably occurred in the late Holocene when the global climate re-cooled after the end of glacial cycles. The intraspecific genetic differentiation in some species might partly reflect their retreat and re-colonization in the Qinghai-Tibetan Plateau area during the climate oscillation.

Key words *Androsace*, *Pomatosace*, phylogeny, biogeography, Qinghai-Tibetan Plateau, Hengduan Mountains, cushion-like plants.

摘要 报道了青藏高原地区的点地梅属 *Androsace* L.及羽叶点地梅属 *Pomatosace* Maxim.共 14 种 29 个居群的 ITS 与 *trn*L-F DNA 序列各 27 与 25 条 并结合已报道相关种类的有关序列,构建了“点地梅群”的分子系统发育树。研究发现‘点地梅群’的 4 个属为一单系类群,含有两个稳定的分支:一支全部由点地梅属的种类组成,另一支分别由羽叶点地梅属、*Douglasia* Lindley、*Vitaliana* Sesler 和 9 种点地梅属植物组成;点地梅属裂叶组 sect. *Samuelia* Schlechtd.的 3 个种与点地梅组 sect. *Androsace* 的 2 个种在 3 套序列分析中位于不同的系统位置。各分支基部的种都分布在中国东南部及青藏高原东部,分子地理标记的结果支持形态学提出该地区为‘点地梅群’植物起源地的假设。从青藏高原东部地区向欧洲及其他北半球地区存在不同时期内多个进化支的多次扩散。粗略的时间估算表明该群植物可能是在第三纪的中新世以来才开始发生的。垫状种类分别在青藏高原和欧洲独立起源,而在青藏高原地区的分化要早于在欧洲的分化,在前一地区可能与青藏高原自中新世开始发生的造山运动、形成高海拔的山地有关,而在后一地区则是与第三纪末至第四纪的冰期气候反复波动有关。垫状植物在青藏高原上的大规模分布则可能较晚,与冰期结束后全新世晚期气候再次变冷有关。一些物种种内的遗传分化也可能部分反映了气候来回波动中它们在高原上的退缩和再扩张过程。

关键词 点地梅属;羽叶点地梅属;系统发育;生物地理学;青藏高原;横断山;垫状植物

垫状植被是青藏高原典型的生态景观之一,广泛分布于平均海拔 4000 m 以上的高原核心地区,如青海南部的果洛、玉树地区,西藏的藏北地区以及可可西里地区,是高山植物

适应高原特殊生境的形态反映（李渤生等，1985）。垫状植物的茎不明显，叶基生，形成莲座状叶丛；这些莲座状叶丛数枚丛生在一起，进而形成半球形的垫状植物（黄荣福，1994）。垫状植物具有生活史长、中心花具有较高温度从而能正常生长结实进行有性繁殖的适应功能（王为义，黄荣福，1990）。青藏高原的垫状植物是一类适应特殊生境的趋同进化植物，包括13科17属70余种（王为义，黄荣福，1990）。报春花科 Primulaceae 的点地梅属 *Androsace* L.是该地区垫状植物分布面积最广、种类最多的一个类群。

点地梅属约有100种，广泛分布于北半球温带，其中青藏高原地区和欧洲的阿尔卑斯山脉是该属的两个分布中心。中国有73种7变种，主要分布在青藏高原，仅有部分种类分布在西北至内蒙古、东北以及秦岭以南各省区（杨永昌，黄荣福，1990）。胡启明和杨永昌（1986）将中国产点地梅属分为6个组：裂叶组 sect. *Samuelia* Schlechtd.、厚叶组 sect. *Mirabiles*（Hand.-Mazz.）Yang & Huang、点地梅组 sect. *Androsace*、高山组 sect. *Chamaejasme* Koch.、石莲组 sect. *Aizoidium* Hand.-Mazz.和直立组 sect. *Orthocaulon* Hand.-Mazz.。点地梅属中的垫状植物主要集中在高山组，高山组在中国约有44种，欧洲中部至南部30余种（不含 *Vitaliana* Sesler 和 *Douglasia* Lindley），中亚－高加索地区10种左右。

Pax 和 Knuth（1905）认为裂叶组的特征与报春花属 *Primula* L.的某些种类最为接近，是点地梅属中最为原始的类群；这些观点得到了后来研究者的认可，如胡启明和杨永昌（1986）。厚叶组是从裂叶组的一个亚组提升而来，只含有3个种，显然与该组具有密切亲缘关系。他们还认为点地梅组来源于裂叶组，石莲组和直立组来源于高山组。根据这些系统假设，胡启明和杨永昌（1986）进而提出，我国西南地区（四川、贵州和云南）是裂叶组的现代分布中心，也可能是本属的起源中心。该属起源后，向西扩散，在高原隆升的复杂环境中演化出新种、新组，成为该属的分化中心；而点地梅组的环北方分布，则是冰后期向北扩大分布的结果。

点地梅属和报春花属是报春花族 Primuleae 中的两个主要进化分支，并在各自的演化过程中分化出一些小属（胡启明，1994）。Spanowsky（1962）全面研究了报春花亚科植物的花粉形态，发现点地梅属、羽叶点地梅属 *Pomatosace* Maxim.、*Vitaliana* 和 *Douglasia* 4属植物的花粉粒为长球形，具3孔沟，萌发孔明显，属于点地梅型；而报春花属及其近缘属植物的花粉为扁球形至圆形，具3－10沟或3－5拟孔沟，无明显萌发孔。羽叶点地梅属是我国特有的单种属，分布于青海东部、甘肃的西南部、四川西北部和西藏东北部（Maximowicz，1881；应俊生，张玉龙，1994）。*Vitaliana* 是分布在欧洲的单种属（Melchior，1964），而 *Douglasia* 则是分布于北美地区和亚洲北部的1个小属，约8个种（Pax & Knuth，1905）。Spanowsky（1962）根据花粉形态将羽叶点地梅属置于其余3属的基部；但是，我们最近的细胞学研究结果表明羽叶点地梅的染色体数目为 $2n=20$，核型公式 $2n=18m+2sm$，十分类似点地梅属中的有关种类（孔宏智，刘建全，1999）。根据 Sarkar（1988）提出的点地梅属染色体进化趋势以及该属局限的地理分化和特化的形态特征，指出羽叶点地梅属很可能就是由点地梅属直接衍生而来。由于这4个属形态近似，都具有喉部缢缩的小型花和‘点地梅型’的花粉，我们暂称之为‘点地梅群’。

利用分子生物学证据建立青藏高原地区与其他地区‘点地梅群’分布物种的系统发育关系，具有如下3方面的重要意义：（1）验证‘点地梅群’属间系统发育关系，特别是青藏高

原特有属羽叶点地梅属的来源；(2)针对基于形态和地理分布证据提出的起源和分化中心假设，根据独立于广义形态学证据之外的分子证据建立系统树，进行进一步验证；(3)该属植物在欧洲和青藏高原都出现了广泛分布的垫状种类，它们是在一个地方起源以后扩散到另一个地方，还是在两个地方独立起源于当地非垫状植物？此外，欧洲高山植物的起源研究表明，这些地区大部分高山植物起源于第三纪末上新世以来的200万年内(Comes & Kadereit，1998)。青藏高原的大规模造山运动应该早于这一时期，特别是Guo等(2002)发现在第三纪2200万年左右，青藏高原的南部山地已经达到相当的高度，能改变季风方向，形成黄土堆积。这一结果暗示，虽然高原还没有整体抬升到目前的高度，但部分高地可能已经能适合垫状种类的生长。如果两地垫状种类是独立起源，它们的大致起源时间是否处于同一时期？

第四纪气候的反复变化，特别是冰期与间冰期反复交错造成了这些高山物种遗传多态性与冰川发育相对应的分布格局(Hewitt，2000)。青藏高原虽然没有发育一个统一的大冰盖，但是在迄今约2万年的最盛期，温度比现在低6–7 ℃，且绝大部分地区为永久性冻土(Hewitt，2000)；而在间冰期，温度比现在还高2–3 ℃，喜寒冷植物向更高的山地退缩(施雅风等，1998)。大量的古植物学证据表明青藏高原地区在第四纪气候反复变迁中发生了几次森林与荒漠草原的植被交错变化(唐领余，沈才明，1996)。这些环境变化是否促进了种内的遗传分化和同一种类在高原上的不同拓展(colonization)途径？

最近，利用分子证据探讨报春花科的分子系统学、分子地理学积累了较多的资料(Trift et al.，2002；Martins et al.，2003；Schönswetter et al.，2003)，这些研究涉及到欧洲山地特有以及中国地区的部分点地梅属种类，为欧洲山地和青藏高原地区种类的比较和系统发育关系重建提供了基础。本文重点研究了青藏高原地区的点地梅属及高原特有的羽叶点地梅属共14种29个居群的ITS与*trn*L-F DNA序列各27与25条，并结合已报道的点地梅属等相关种类的这两个DNA片段数据，一起构建了分子系统发育树，以此为基础，对上述存在的诸多问题进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 材料来源

本次研究的大部分种类，分别由作者1999年至2002年夏季采自西藏、青海和四川的高海拔地区，在野外仔细观察其形态特征后，选择能代表其居群形态特征的个体，利用硅胶干燥叶片保存。各种植物的采集地点和归属的组见表1。最后的分析种类中点地梅属内6个组中仅厚叶组(3个种，分布在云南、四川，与裂叶组在形态上更为接近，原为后者的一个亚组)没有研究代表，因而不影响对整个属系统发育关系的分析结果和本文的主要研究目的。凭证标本存于中国科学院西北高原生物研究所标本馆(HNWP)。

1.2 实验方法

总DNA提取采用改进的CTAB法(Doyle & Doyle，1987)。*Trn*L-F区扩增使用引物‘c”5′-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3′和“f”5′-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3′(Taberlet et al.，1991)。ITS区扩增使用引物“1”5′-AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGG-3′和“4”5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′(White et al.，1990)。50 μL反应体积含：双蒸水36 μL，10×

表 1 材料来源（点地梅属采用 Wendelbo（1961）、**杨永昌和黄荣福**（1990）**的属下分类系统，***Vitaliana* **和** *Douglasia* **除外）**

Table 1 Source of materials (The infrageneric classification of *Androsace* is according to Wendelbo (1961) and Yang and Huang (1990), but excluding *Vitaliana* and *Douglasia*)

分类群 Taxon	采集地 Locality	凭证标本1) Voucher1)	分布与习性2) Distribution and habit2)	GenBank 序列号3) GenBank accession number3)	
				ITS	*trn*L-F
点地梅属 ***Androsace*** **L.**					
点地梅组 Sect. ***Androsace***					
东北点地梅 *A. filiformis* Retz.	(GenBank)		△/ANN	AY275078	AY274955
大苞点地梅 *A. maxima* L.	(GenBank)		△/ANN	AY275099	AY274958
北点地梅 *A. septentrionalis* L.	(GenBank)		▲，△/ANN	AY275074	AY274959
石莲组 Sect. ***Aizoidium*** **Hand.-Mazz.**					
石莲叶点地梅 *A. integra* (Maxim.) Hand.-Mazz.	(GenBank)		●/ANN，PRE	AY275098	AY274953
高山组 Sect. ***Chamaejasme*** **Koch.**					
扎多点地梅 *A. alaschanica* Maxim. var. *zadoensis* Y. C. Yang & R. F. Huang	**青海囊谦** Nangqên，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 585	●/ROS	AY545758*	AY545783*
昌都点地梅 *A. bisulca* Bur. & Franch.	**西藏浪卡子** Nagarzê，Xizang	**刘建全** (J. Q. Liu) 1125	○/ROS	AY545733*	AY545761*
	西藏桑日 Sangri，Xizang	**刘建全** (J. Q. Liu) 1140		AY545734*	AY545762*
	西藏加查 Gyaca，Xizang	**刘建全** (J. Q. Liu) 1160		AY545735*	AY545763*
康定点地梅 *A. limprichtii* Pax & Hoffm.	**栽培于日内瓦植物园** Cultivated in Genevese Botanical Garden	**刘建全** (J. Q. Liu) 708	●/ROS	AY545756*	AY545779*
西藏点地梅 *A. mariae* Kanitz	**青海囊谦** Nangqên，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 622	●，○/ROS	AY545739*	AY545764*
	青海祁连 Qilian，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 712		AY545737*	AY545765*
	青海曲麻莱 Qumarlêb，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 974		AY545738*	AY545766*
	西藏江达 Jomda，Xizang	**刘建全** (J. Q. Liu) 1264		AY545736*	AY545767*
刺叶点地梅 *A. spinulifera* (Franch.) R. Knuth	**西藏桑日** Sangri，Xizang	**刘建全** (J. Q. Liu) 1138	○/CUS	–	AY545760*
鳞叶点地梅 *A. squarrosula* Maxim.	**青海兴海** Xinghai，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 630	●/CUS	AY545747*	AY545770*
唐古拉点地梅 *A. tangulashanensis* Y. C. Yang & R. F. Huang	**青海治多** Zhidoi，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 681	●/CUS	–	AY545772*
垫状点地梅 *A. tapete* Maxim.	**青海玛多** Madoi，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 627	●/CUS	AY545750*	–
粗毛点地梅 *A. wardii* W. W. Smith	**青海玉树** Yushu，Qinghai	**刘建全** (J. Q. Liu) 884	○/ROS	AY545749*	AY545773*

表 1（续） Table 1（continued）

分类群 Taxon	采集地 Locality	凭证标本1) Voucher1)	分布与习性2) Distribution and habit2)	GenBank 序列号3) GenBank accession number3) ITS	 *trn*L-F
雅江点地梅 *A*. *yargongensis* Petitm.	**青海互助** Huzhu，Qinghai	**刘建全** （J. Q. Liu）442	●/CUS	AY545746*	–
	青海玛多 Madoi，Qinghai	**刘建全** （J. Q. Liu）523		AY545743*	–
	青海囊谦 Nangqên，Qinghai	**刘建全** （J. Q. Liu）594		AY545744*	AY545781*
	青海称多 Chindu，Qinghai	**刘建全** （J. Q. Liu）841		AY545745*	AY545782*
高原点地梅 *A*. *zambalensis*（Petitm.）Hand.-Mazz.	**青海玛沁** Maqên，Qinghai	**刘建全** （J. Q. Liu）506	●/CUS	AY545740*	AY545768*
	青海治多 Zhidoi，Qinghai	**刘建全** （J. Q. Liu）683		AY545741*	AY545769*
	青海曲麻莱 Qumarlêb，Qinghai	**刘建全** （J. Q. Liu）954		AY545742*	–
A. *alpina*（L.）Lam.	（GenBank）		▲/CUS	AY275053	AY27496
A. *brevis*（Hegetschw.）Cesati	（GenBank）		▲/CUS	AY275049	AY274964
A. *chamaejasme* Wulf.	（GenBank）		▲/ROS	AF402555	AF402437
滇西北点地梅 *A*. *delavayi* Franch.	（GenBank）		●/ROS	AY275101	AY274950
A. *hevetica*（L.）All.	（GenBank）		▲/CUS	AY275065	AY274981
亚东点地梅 *A*. *hookeriana* Klatt	（GenBank）		○/ROS	AY275096	AY274954
A. *lactea* L.	（GenBank）		▲/CUS	AY275069	AY274986
旱生点地梅 *A*. *lehmanniana* Spreng.	（GenBank）		△/ROS	AY275088	AY274948
A. *obtusifolia* All.	（GenBank）		▲/ROS	–	AY274972
A. *pubescens* DC.	（GenBank）		▲/CUS	AY275064	AY274978
硬枝点地梅 *A*. *rigida* Hand.-Mazz.	（GenBank）		○/ROS	AY275095	AY274951
A. *sempervivoides* Jacq.	（GenBank）		△/ROS	AF402555	AF402436
A. *studiosorum* A. Kress	（GenBank）		△/ROS	–	AY274946
A. *vandellii*（Turra）Chiov.	（GenBank）		▲/CUS	AY275060	AY274967
A. *villosa* L.	（GenBank）		▲/CUS	AY275084	AY274944
A. *wulfeniana* Sieber ex Koch	（GenBank）		▲/CUS	AY274962	AY275047
狭叶点地梅 *A*. *stenophylla*（Petitm.）Hand.-Mazz.	（GenBank）		●/ROS	AY275085	AY274952
直立组 Sect. *Orthocaulon* Hand.-Mazz.					
直立点地梅 *A*. *erecta* Maxim.	**西藏邦达** Bangda，Xizang	**刘建全** （J. Q. Liu）1224	●，○/ANN	AY545757*	AY545780*
裂叶组 Sect. *Samuelia* Schlechtd.					
腋花点地梅 *A*. *axillaris*（Franch.）Franch.	（GenBank）		○/PRE	AY275105	AY274949
莲叶点地梅 *A*. *henryi* Oliv.	**四川九龙** Jiulong，Sichuan	**刘建全** （J. Q. Liu）670	○/PRE	AY545748*	AY545771*
峨眉点地梅 *A*. *paxiana* R. Knuth	（GenBank）		○/PRE	AY323705	–

表 1(续) **Table 1** (continued)

分类群 Taxon	采集地 Locality	凭证标本1) Voucher1)	分布与习性2) Distribution and habit2)	GenBank 序列号3) GenBank accession number3)	
				ITS	*trn*L-F
羽叶点地梅 *Pomatosace filicula* Maxim. ($2n = 20 = 18sm + 2sm$)	青海玛多 Madoi, Qinghai	刘建全 (J. Q. Liu) 628	●,○/ANN	AY545753*	AY545776*
	青海称多 Chindu, Qinghai	刘建全 (J. Q. Liu) 649		AY545752*	AY545775*
	青海治多 Zhidoi, Qinghai	刘建全 (J. Q. Liu) 686		AY545751*	AY545774*
	青海兴海 Xinghai, Qinghai	刘建全 (J. Q. Liu) 738		AY545755*	AY545777*
	青海玛多 Madoi, Qinghai	刘建全 (J. Q. Liu) 739		AY545754*	AY545778*
Douglasia nivalis Lindl. ($2n = 38$)	(GenBank)		■/CUS	AY275026	AY274991
Vitaliana primuliflora Bertol. ($2n = 40$)	(GenBank)		▲/CUS	AY275050	AY274966
长果报春 *Bryocarpum himalaicum* Hook. f. & Thoms.	(GenBank)		–	AJ491428 AJ491672	–
Soldanella rugosa L. B. Zhang	(GenBank)		–	AJ306360	–
假婆婆纳 *Stimpsonia chamaedryoides* Wright ex A. Gray	(GenBank)		–	AJ491669	–
苞芽粉报春 *Primula gemmifera* Batal.	青海囊谦 Nangqên, Qinghai	刘建全 (J. Q. Liu) 613	–	AY545759*	AY545784*

1)凭证标本存于中国科学院西北高原生物研究所标本馆(HNWP)。2) 地理分布：○，中国西南地区和青藏高原东南部地区；●，青藏高原核心地区；△，中亚、亚洲北部和高加索；▲，欧洲山地；■，北美地区。生活习性分别为：ANN，一年生、两年生或者多年生一次结实；CUS，垫状多年生；PRE，多年生；ROS，莲座状多年生。3) * 为本研究新获得的序列。

1) Vouchers are preserved in HNWP. 2) Distribution: ○, Southeastern Qinghai-Tibetan Plateau and southwestern China; ●, Central Qinghai-Tibetan Plateau; △, Central Asia, northern Asia and Caucasus; ▲, Europe mountains; ■, North America. Habit: ANN, annuals, biennials or once seed set after growing for more than two years; CUS, cushion-like perennials; PRE, perennials; ROS, rosette perennials. 3) *, sequences are firstly reported in the present study.

Tris-HCl 缓冲液(pH 9.2，25 mmol/L KCl，1.5 mmol/L $MgCl_2$) 5 μL，dNTP 1 μL (8 mmol/L)，正反引物各 2.5 μL (5 μmol/L)，*Taq* 酶 1 μL (3 Unit/μL) 以及模板 2 μL (12.5 mmol/L)。扩增条件：94 ℃ 4 min，接以 94 ℃ 40 s，55 ℃ 20 s，72 ℃ 50 s，循环 32 次，在 72 ℃保温 4 min。扩增得到的 PCR 产物利用 CASpure PCR Purification Kit (上海中科开瑞生物芯片科技股份有限公司)纯化。纯化后的产物利用同样的引物和 DYEnamic Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham Biosciences Corporation)试剂盒进行测序 PCR 扩增，条件为：94 ℃ 15 s，50 ℃ 15 s，60 ℃ 90 s，循环 25 次。产物用 Autoseq 96 Plates (Amersham Biosciences Corporation)纯化，在 MegaBACE 500 DNA Analysis System 上进行测序。每条链均能完整读出约 500 bp，正反两条链相互重叠大于 50%。

*Trn*L-F 和 ITS 序列范围根据 GenBank 下载的报春花科植物序列确定；每种植物的序列注册 GenBank，并自 GenBank 调取点地梅属、*Vitaliana* 属和 *Douglasia* 属相关种类的序列。所有种类的 GenBank 序列号见表 1。

1.3 序列分析与系统树构建

序列排列用 Clustal X 软件完成(Thompson et al., 1997)，排完后适当手工校正。

用 PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003)进行简约(parsimony)分析，空位(gap)始终作为缺失

状态，使用启发式（heuristic）搜索最简约树，采用100次重复的随机加入（random addition of 100 replicates）寻找最简约树的岛屿（island）分布（Maddison，1991）；并利用自展分析（bootstrap）检验各分支的置信度（1000次重复）（Felsenstein，1985）。

用MrBayes 3.0b4（Huelsenbeck & Ronquist，2001）构建Bayesian树，选用GTR + G模型，以随机树（random tree）开始分析，4条链同时运行，链的温度等参数取默认值，分析执行200万代（generations），每100代选取一棵树保存，共获得2万棵树，根据可能性值（likelihood value）及经验估计，后面的1.6万棵树用于计算50%多数一致性树。

本文研究的部分种及GenBank中下载的部分种仅有一套序列，排除这些种类后，利用两套序列同时构建分子系统树。为了检测来自不同DNA片段所得到的系统发育是否存在冲突，利用PAUP* 4.0b10（Swofford，2003）程序中的Partition-homogeneity test（PHT，Farris et al.，1995）对叶绿体和核DNA两套序列系统树之间的拓扑一致性进行评价，检测进行1000次重复。

利用报春花属的*Primula gemmifera* Batal.作为外类群，*Soldanella rugosa* L. B. Zhang、*Stimpsonia chamaedryoides* Wright ex A. Gray和长果报春均作为内类群来检验点地梅属的单系性质以及与近缘属的系统发育关系。

1.4 相对速率检测和分化时间估算

首先在PAUP* 4.0b10（Swofford，2003）程序下用Modeltest 3.06（Posada & Crandall，1998）寻找ITS序列所适合的最佳模型及相关参数，然后利用使用和不使用分子钟假设所得到的最大可能值（log likelihood）之差乘2，利用单因数方差分析检验其显著性（Goldman，1993）。由于研究数据不符合分子钟假设，我们采用不使用分子钟假设所得到的最大可能树，保留其枝长，利用NPRS（nonparametric rate smoothing）方法（Sanderson，1997）在TreeEdit下计算物种的分化时间（Rambaut & Charleston，2000）。

2 分析结果

2.1 系统发育关系

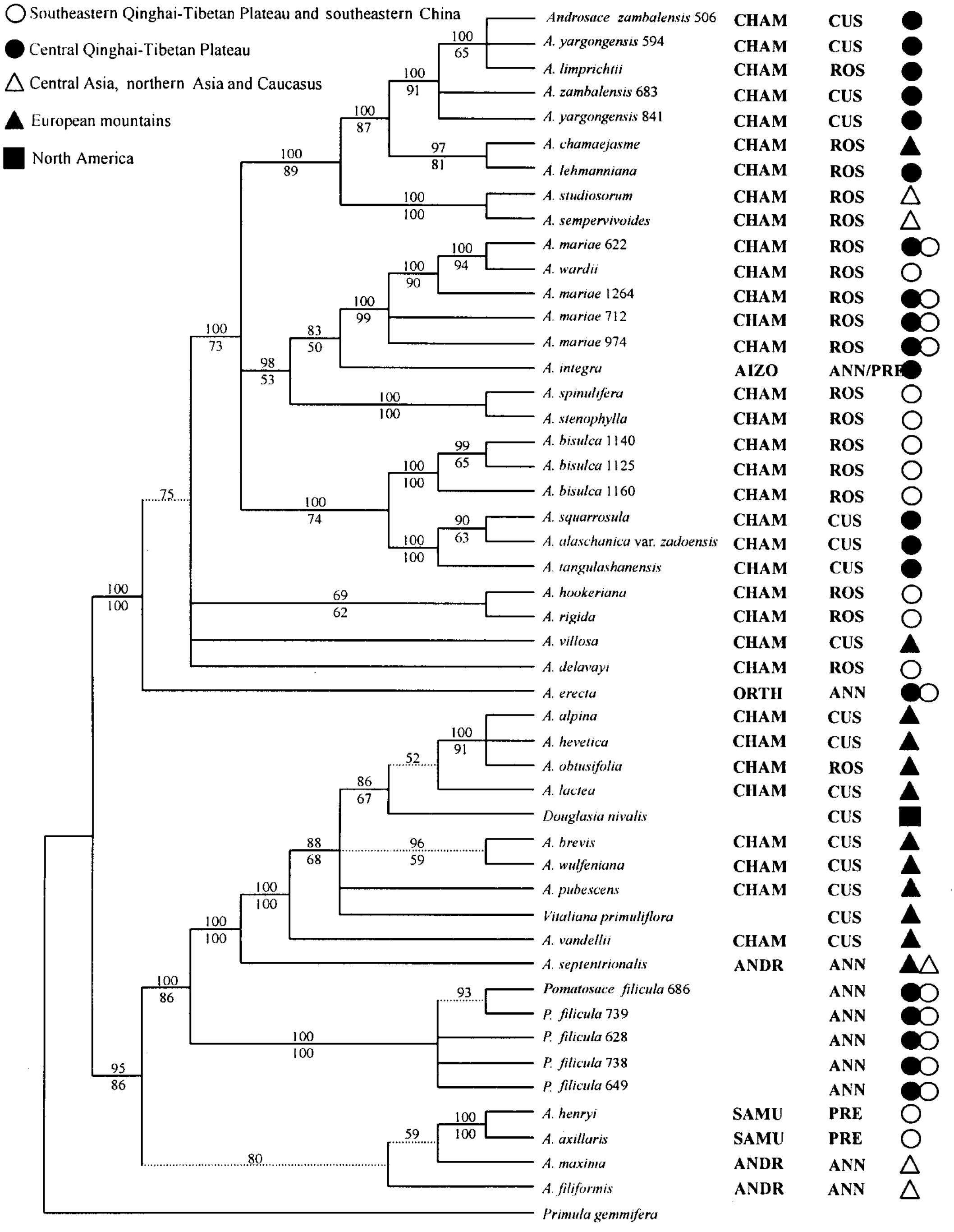
所有类群的叶绿体*trn*L-F序列长度排序后总长1091 bp；当空位作缺失处理时，具有信息位点210个，启发式搜索得到位于89个岛屿中的144503棵最简约树，$CI = 0.795$，$RI = 0.934$，步长 = 536。Bayesian 50%多数一致性树如图1。两套分析方法得到的主要分支基本一致，Bayesian分析得到的50%以上的分支显然比简约性严格一致树和自展分析

→

图1 *Trn*L-F序列的Bayesian 50%多数一致性树 分支上下的数字分别表示Bayesian后概率与简约性分析的自展分析支持率。虚线表示该分支在简约分析的严格一致性树上不存在。种名后面的ANDR、SAMU、CHAM、AIZO及ORTH分别代表点地梅属的点地梅组、裂叶组、高山组、石莲组和直立组。生活习性分别为：ANN，一年生、两年生或者多年生一次结实；CUS，垫状多年生；PRE，多年生；ROS，莲座状多年生。地理分布说明见图的左上角。

Fig. 1. Fifty percent Bayesian majority rule consensus tree of *trn*L-F sequence data. Numbers above internodes indicate the Bayesian posterior probabilities and below the MP bootstrap value based on 1000 replicates. Dashed lines denote that collapse in the strict consensus tree of parsimonious analysis. ANDR, SAMU, CHAM, AIZO, and ORTH following each *Androsace* species are abbreviations of sect. *Androsace*, sect. *Samuelia*, sect. *Chamaejasme*, sect. *Aizoidium*, and sect. *Orthocaulon*, respectively. Habits of each species following section names are indicated as: ANN, annuals, biennials or once seed set after growing for more than two yeas; CUS, cushion-like perennials; PRE, perennials; ROS, rosette perennials. The distribution of each species is illustrated in the above left corner of figure.

50%以上的分支多。自展分析值高于 50%的结果也标记在图 1,简约性严格一致性树上不存在的分支用虚线表示。“点地梅群”的 4 个属分为 2 支,这 2 支均得到自展分析和 Bayesian 值较高的支持。一支全部由点地梅属的种类组成(点地梅支),包括分布于亚洲的全部高山组种类、2 种分布在欧洲的种类以及石莲组和直立组各 1 种;直立组单独作为这一支最早的分支,仅得到 Bayesian 值的支持;石莲组深置于分支内部。另一支又分为两


○ Southeastern Qinghai-Tibetan Plateau and southeastern China
● Central Qinghai-Tibetan Plateau
△ Central Asia, northern Asia and Caucasus
▲ European mountains
■ North America
Androsace zambalensis 506 CHAM CUS ●
A. yargongensis 594 CHAM CUS ●
A. limprichtii CHAM ROS ●
A. zambalensis 683 CHAM CUS ●
A. yargongensis 841 CHAM CUS ●
A. chamaejasme CHAM ROS ▲
A. lehmanniana CHAM ROS ●
A. studiosorum CHAM ROS △
A. sempervivoides CHAM ROS △
A. mariae 622 CHAM ROS ●○
A. wardii CHAM ROS ○
A. mariae 1264 CHAM ROS ●○
A. mariae 712 CHAM ROS ●○
A. mariae 974 CHAM ROS ●○
A. integra AIZO ANN/PRE ●
A. spinulifera CHAM ROS ○
A. stenophylla CHAM ROS ○
A. bisulca 1140 CHAM ROS ○
A. bisulca 1125 CHAM ROS ○
A. bisulca 1160 CHAM ROS ○
A. squarrosula CHAM CUS ●
A. alaschanica var. zadoensis CHAM CUS ●
A. tangulashanensis CHAM CUS ●
A. hookeriana CHAM ROS ○
A. rigida CHAM ROS ○
A. villosa CHAM CUS ▲
A. delavayi CHAM ROS ○
A. erecta ORTH ANN ●○
A. alpina CHAM CUS ▲
A. hevetica CHAM CUS ▲
A. obtusifolia CHAM ROS ▲
A. lactea CHAM CUS ▲
Douglasia nivalis CUS ■
A. brevis CHAM CUS ▲
A. wulfeniana CHAM CUS ▲
A. pubescens CHAM CUS ▲
Vitaliana primuliflora CUS ▲
A. vandellii CHAM CUS ▲
A. septentrionalis ANDR ANN ▲△
Pomatosace filicula 686 ANN ●○
P. filicula 739 ANN ●○
P. filicula 628 ANN ●○
P. filicula 738 ANN ●○
P. filicula 649 ANN ●○
A. henryi SAMU PRE ○
A. axillaris SAMU PRE ○
A. maxima ANDR ANN △
A. filiformis ANDR ANN △
Primula gemmifera
100 65
100 91
100 87
97 81
100 89
100 100
100 94
100 90
100 99
83 50
98 53
100 100
100 73
99 65
100 100
100 74
90 63
100 100
75
69 62
100 100
100 91
52
86 67
88 68
96 59
100 100
100 100
100 86
93
100 100
95 86
100 100
59
80

个亚分支，第一亚分支由点地梅属高山组的8个欧洲种、点地梅组的北点地梅、羽叶点地梅属、*Douglasia nivalis*和*Vitaliana primuliflora*组成（羽叶点地梅-点地梅支），在这一亚分支中，羽叶点地梅为其余类群的姊妹群，北点地梅是欧洲和北美分布的点地梅种类、*Douglasia nivalis*和*Vitaliana primuliflora*的姊妹群；另一亚支由裂叶组的2个种及点地梅组的大苞点地梅和东北点地梅组成，但这一亚分支在严格一致树上不存在，也未得到自展分析支持。

ITS序列长度排序后总长554 bp；当空位作缺失处理时，具有信息位点320个，启发式搜索得到位于85个岛屿中的1209棵最简约树，$CI = 0.558$，$RI = 0.813$，步长 = 1224。Bayesian 50%多数一致性树如图2，与简约分析严格一致树以及自展分析得到的主要分支基本一致，自展分析高于50%的分析值置于图2各分支的下面，严格一致树上不存在的分支用虚线表示。“点地梅群”的所有种类组成一单系群，得到自展分析和Bayesian值较高的支持，*Soldanella rugosa*、*Stimpsonia chamaedryoides*和长果报春组成一支，是“点地梅群”的姊妹群。在“点地梅群”内，ITS序列的分析结果与*trn*L-F序列所分析的结果基本一致，但裂叶组的3个种组成一单系群，位于所有类群的基部；点地梅组的大苞点地梅和东北点地梅位于“点地梅支”的基部，而不是像*trn*L-F树上，与裂叶组一起，为“羽叶点地梅-点地梅支”的姊妹群。

去掉仅有一套序列的类群，用于ITS + *trn*L-F分析的终端类群为45个，排序后总长1645 bp；当空位作缺失处理时，具有信息位点481个。尽管两套序列单独的分析在裂叶组和点地梅组的系统位置上存在一定的差异，但利用PTP分析两套序列的协调性程度，检测结果发现冲突不显著（$P = 0.8$，> 0.05）。启发式搜索得到位于44个岛屿中的146棵最简约树，$CI = 0.662$，$RI = 0.870$，步长 = 1512。Bayesian 50%多数一致性树如图3，在简约分析的严格一致性树上不存在的分支用虚线表示。联合分析进一步确认了两套序列单独分析揭示的“点地梅群”两个稳定分支：“点地梅支”和“羽叶点地梅-点地梅支”。但点地梅组的大苞点地梅同裂叶组的两个种一起构成一个较为稳定的分支，与点地梅组的东北点地梅一起位于“点地梅支”的基部，但这种分支关系得不到简约分析的支持。

2.2 相对速率和分化时间

使用Modeltest 3.06（Posada & Crandall，1998）分析得到ITS序列的最适模型为GTR + G，相关参数分别为：不同位点变异速率差异（among-site rate variation）呈gamma分布（gamma distribution），形状参数alpha = 1.0335；碱基替代率（substitution rate）$R(a) = 1.2119$，$R(b) = 2.2055$，$R(c) = 1.5877$，$R(d) = 0.4500$，$R(e) = 3.6684$，碱基组成频率（base frequency）A = 0.2142，C = 0.2724，G = 0.2695，T = 0.2439。根据这个模型及参数，使用和不使用分子钟假设所得到的最大可能值不支持分子钟假设（$-2\ln LR = 2(5387.31218 - 5330.56928) = 113.4858$，$df = 51$，$P < 0.005$）。这种非匀速变化可能与点地梅属生活习性的多次转变有关（如从多年生到一年生、再演化为多年生以及多年生莲座状或者垫状草本）。我们以多年生草本进化速率7.83×10^{-9} s·s^{-1}·a^{-1}（substitution per site per year）（Sang et al.，1995）来计算“点地梅群”植物与其他各属分歧的最早时间，为18.02 Mya（million years ago，百万年以前，下同）。利用NPRS计算其余各种的分歧时间见图4。青藏高原分布大部分高山组物种的分化时间在750万年内，而欧洲的大部分种类分化时间在200万年内。

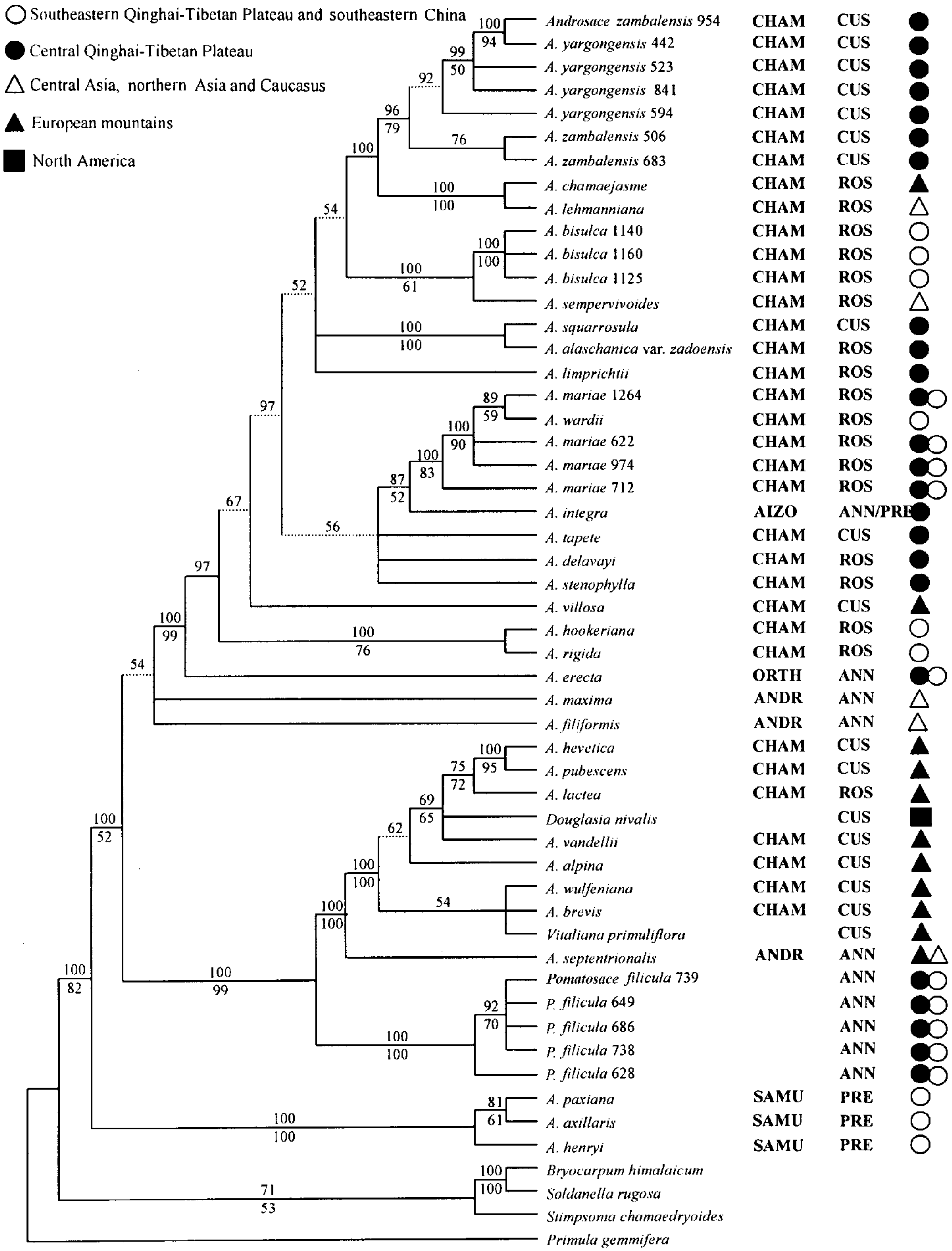

○ Southeastern Qinghai-Tibetan Plateau and southeastern China
● Central Qinghai-Tibetan Plateau
△ Central Asia, northern Asia and Caucasus
▲ European mountains
■ North America
Androsace zambalensis 954 CHAM CUS ●
A. yargongensis 442 CHAM CUS ●
A. yargongensis 523 CHAM CUS ●
A. yargongensis 841 CHAM CUS ●
A. yargongensis 594 CHAM CUS ●
A. zambalensis 506 CHAM CUS ●
A. zambalensis 683 CHAM CUS ●
A. chamaejasme CHAM ROS ▲
A. lehmanniana CHAM ROS △
A. bisulca 1140 CHAM ROS ○
A. bisulca 1160 CHAM ROS ○
A. bisulca 1125 CHAM ROS ○
A. sempervivoides CHAM ROS △
A. squarrosula CHAM CUS ●
A. alaschanica var. zadoensis CHAM ROS ●
A. limprichtii CHAM ROS ●
A. mariae 1264 CHAM ROS ●○
A. wardii CHAM ROS ○
A. mariae 622 CHAM ROS ●○
A. mariae 974 CHAM ROS ●○
A. mariae 712 CHAM ROS ●○
A. integra AIZO ANN/PRE ●
A. tapete CHAM CUS ●
A. delavayi CHAM ROS ●
A. stenophylla CHAM ROS ●
A. villosa CHAM CUS ▲
A. hookeriana CHAM ROS ○
A. rigida CHAM ROS ○
A. erecta ORTH ANN ●○
A. maxima ANDR ANN △
A. filiformis ANDR ANN △
A. hevetica CHAM CUS ▲
A. pubescens CHAM CUS ▲
A. lactea CHAM ROS ▲
Douglasia nivalis CUS ■
A. vandellii CHAM CUS ▲
A. alpina CHAM CUS ▲
A. wulfeniana CHAM CUS ▲
A. brevis CHAM CUS ▲
Vitaliana primuliflora CUS ▲
A. septentrionalis ANDR ANN ▲△
Pomatosace filicula 739 ANN ●○
P. filicula 649 ANN ●○
P. filicula 686 ANN ●○
P. filicula 738 ANN ●○
P. filicula 628 ANN ●○
A. paxiana SAMU PRE ○
A. axillaris SAMU PRE ○
A. henryi SAMU PRE ○
Bryocarpum himalaicum
Soldanella rugosa
Stimpsonia chamaedryoides
Primula gemmifera
100
94
99
50
92
96
79
100
76
100
100
54
100
100
100
61
52
100
100
89
97
59
100
90
100
83
87
52
67
56
97
100
99
100
76
54
100
95
75
72
69
65
100
52
62
100
100
54
100
100
100
82
100
99
92
70
100
100
81
61
100
100
100
100
71
53

图 2 ITS 序列的 Bayesian 50% 多数一致性树 其余说明同图 1。

Fig. 2. Fifty percent Bayesian majority rule consensus tree of ITS sequence data. The remaining explanations are the same as in Fig. 1.

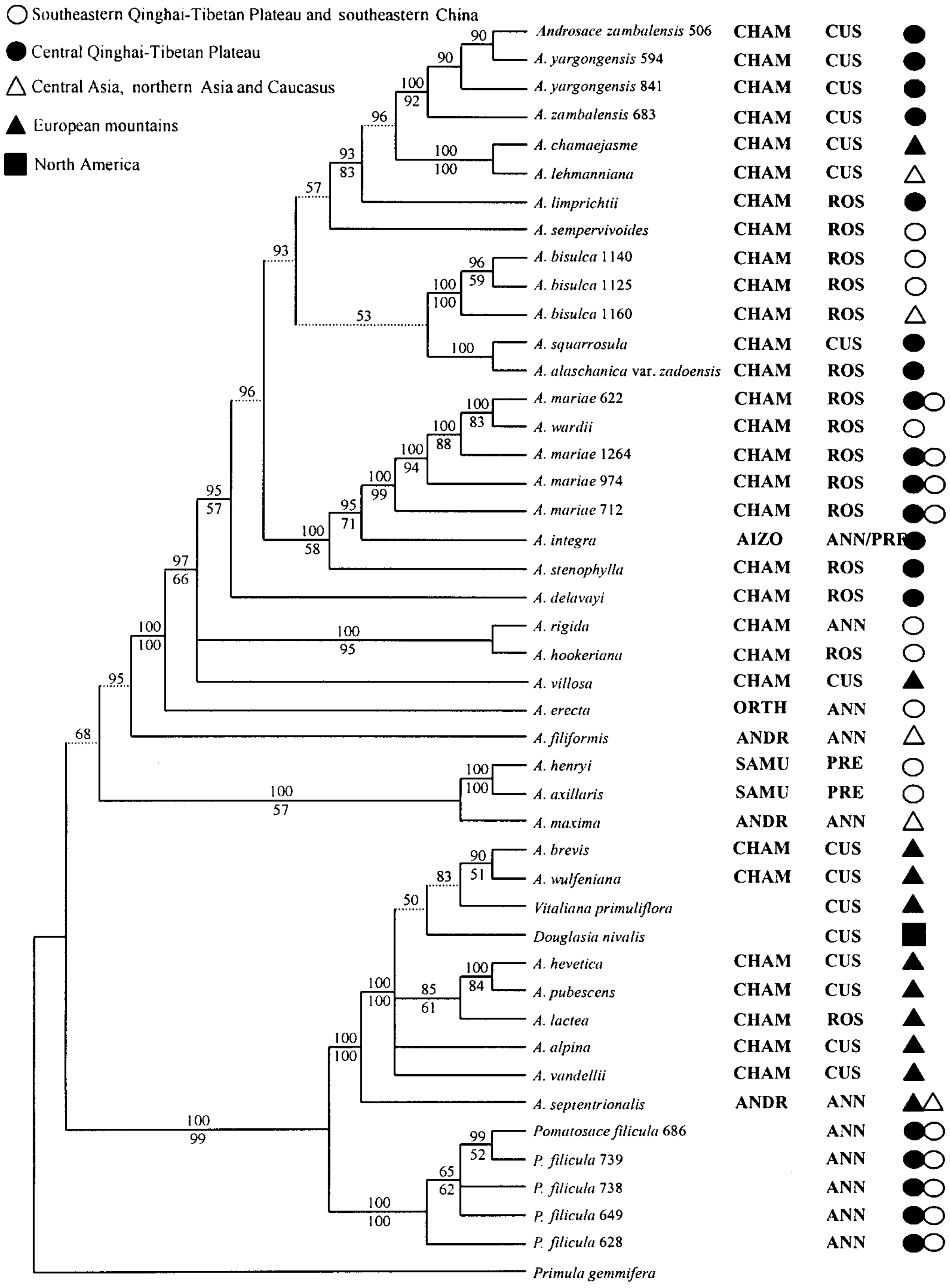

○ Southeastern Qinghai-Tibetan Plateau and southeastern China
● Central Qinghai-Tibetan Plateau
△ Central Asia, northern Asia and Caucasus
▲ European mountains
■ North America
Androsace zambalensis 506 CHAM CUS ●
A. yargongensis 594 CHAM CUS ●
A. yargongensis 841 CHAM CUS ●
A. zambalensis 683 CHAM CUS ●
A. chamaejasme CHAM CUS ▲
A. lehmanniana CHAM CUS △
A. limprichtii CHAM ROS ●
A. sempervivoides CHAM ROS ○
A. bisulca 1140 CHAM ROS ○
A. bisulca 1125 CHAM ROS ○
A. bisulca 1160 CHAM ROS △
A. squarrosula CHAM CUS ●
A. alaschanica var. zadoensis CHAM ROS ●
A. mariae 622 CHAM ROS ●○
A. wardii CHAM ROS ○
A. mariae 1264 CHAM ROS ●○
A. mariae 974 CHAM ROS ●○
A. mariae 712 CHAM ROS ●○
A. integra AIZO ANN/PRE ●
A. stenophylla CHAM ROS ●
A. delavayi CHAM ROS ●
A. rigida CHAM ANN ○
A. hookeriana CHAM ROS ○
A. villosa CHAM CUS ▲
A. erecta ORTH ANN ○
A. filiformis ANDR ANN △
A. henryi SAMU PRE ○
A. axillaris SAMU PRE ○
A. maxima ANDR ANN △
A. brevis CHAM CUS ▲
A. wulfeniana CHAM CUS ▲
Vitaliana primuliflora CUS ▲
Douglasia nivalis CUS ■
A. hevetica CHAM CUS ▲
A. pubescens CHAM CUS ▲
A. lactea CHAM ROS ▲
A. alpina CHAM CUS ▲
A. vandellii CHAM CUS ▲
A. septentrionalis ANDR ANN ▲△
Pomatosace filicula 686 ANN ●○
P. filicula 739 ANN ●○
P. filicula 738 ANN ●○
P. filicula 649 ANN ●○
P. filicula 628 ANN ●○
Primula gemmifera
90
90
100
92
96
93
83
100
100
57
93
96
59
100
100
53
100
96
100
83
100
88
100
94
100
99
95
95
71
57
100
58
97
66
100
95
100
100
95
68
100
100
100
57
90
83
51
50
100
84
100
85
100
61
100
100
100
99
99
52
65
62
100
100

图 3 ITS 和 *Trn*L-F 两套序列联合分析的 Bayesian 50%多数一致性树。其余说明同图 1

Fig. 3. Fifty percent Bayesian majority rule consensus tree of *trn*L-F + ITS sequence data. The remaining explanations are the same as in Fig. 1.

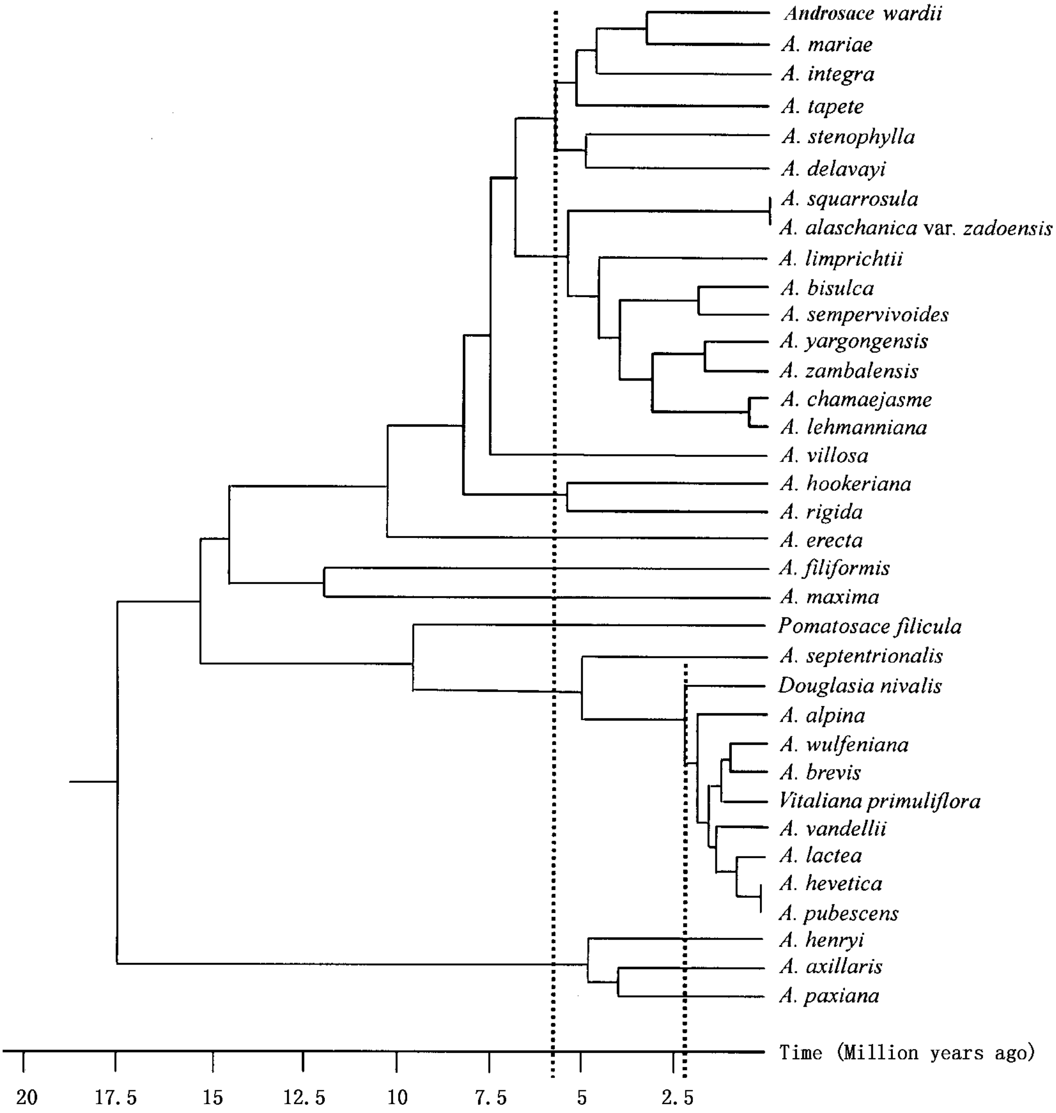


图 4　利用多年生草本的 ITS 序列分化速率 $7.83\times10^{-9}\mathrm{s}\cdot\mathrm{s}^{-1}\cdot\mathrm{a}^{-1}$(substitution per site per year)和 NPRS (nonparametric rate smoothing)粗略估计的各分支分歧时间

Fig. 4.　The crudely estimated divergence time of main branches according to the NPRS (nonparametric rate smoothing) tree calibrated by a rate of $7.83\times10^{-9}\mathrm{s}\cdot\mathrm{s}^{-1}\cdot\mathrm{a}^{-1}$(substitution per site per year) for ITS sequences of perennial herbs.

但这里估测的分歧时间可能具有很大的误差，因为相对速率检验发现种间存在非匀速进化；而且不同类群、不同地区分子进化速度存在差异(Wilson et al., 1990；Gaut et al., 1992, 1993)。此外，图 4 表示的分化时间不是所估测的每个物种具体的起源时间，而是这个物种所代表的分支(lineage)可能的起源时间；因为该属中许多物种都没有分析，每个分支可能还有其他近缘的物种，每个物种具体起源的时间比这里估测的还要晚。因此，这里估测的时间必须十分小心地与来自地质学以及古植被方面的其他证据结合使用。由于点地梅属最早的种子化石发现于欧洲的中新世，其年代应在 5.2 – 23.3 Mya 之间(Zhang et al.，2001)，而我们估测的欧洲种类与青藏高原分布的羽叶点地梅的分歧时间为 9.93 Mya，介于这一时间范围之内，因此我们这里的估测时间与化石证据基本吻合。

3 讨 论

3.1 “点地梅群”内的系统发育关系

叶绿体 DNA *trn*L-F、核 DNA ITS 序列以及两套序列合并分析的研究结果均表明点地梅属、羽叶点地梅属、*Vitaliana* 属和 *Douglasia* 属 4 个属为一单系群，这一结果与其外部形态以及花粉和染色体证据是基本一致的。这 4 个属的花萼均为杯状，花冠筒坛状，喉部收缩且具环状附属物，蒴果近球形；这些形态性状的组合在报春花族乃至整个报春花科都是独一无二的(胡启明，1994；Pax & Knuth，1905)。它们的花粉粒为长球形，具 3 孔沟，萌发孔明显；不同于报春花属类植物的扁球形至圆形、具 3－10 沟或 3－5 拟孔沟、无明显萌发孔的花粉(Spanowsky，1962)。这 4 个属的染色体基数为 x＝10 或者以此为基数形成非整倍性下降的次生基数 x＝19 (2n＝38，*Douglasia*)(Sarkar，1988；孔宏智，刘建全，1999)。羽叶点地梅属与点地梅属在外部形态上的最主要的差别在于前者的蒴果为盖裂(Maximowicz，1881)。Pax 和 Knuth (1905)将羽叶点地梅属与 *Bryocarpum* Hook. f. & Thoms. 属和 *Soldanella* L. 属放在一起，主要依据也在于此。实际上，蒴果盖裂这一性状不仅在上述 3 属中出现，在报春花属和琉璃繁缕属 *Anagallis* L. 中也出现(胡启明，1994)，而琉璃繁缕属一直是珍珠菜族 Lysimachieae 的主要成员(胡启明，1994；Melchior，1964；Pax & Knuth，1905)。在报春花科中蒴果由不开裂→瓣裂→盖裂的演化过程(胡启明，1994；胡启明，杨永昌，1986)可能发生了不止一次；琉璃繁缕属、羽叶点地梅属、报春花属、*Bryocarpum* 属和 *Soldanella* 属等类群蒴果盖裂的性状可能都是趋同演化的结果(孔宏智，刘建全，1999)。本文的 ITS 序列分析证实了这一推论，*Soldanella* 属和羽叶点地梅属始终位于不同的分支上(图 2)。在报春花科中，分别使用叶绿体 *rbc*L 和 ITS 序列建立的分子系统树也不支持 Pax 和 Knuth (1905)关于蒴果盖裂的羽叶点地梅属和 *Soldanella* 具有亲缘关系的结论(Trift et al.，2002；Martins et al.，2003)。

由这 4 个属构成的‘点地梅群’含有两个非常稳定的单系分支：“点地梅支”和“羽叶点地梅-点地梅支”的基部，前者包括主产青藏高原的大部分种类、部分中亚和欧洲分布的种类，分别来自直立组、石莲组和高山组，直立组位于这一支的最基部；石莲组显然是来源于高山组，分支关系表明该组应合并到高山组内。后者包括亚洲北部和欧洲山地分布的一年生植物北点地梅、欧洲分布的垫状形态的点地梅的大部分种类，如 *A. hevetica* (L.) All.、*A. alpina* (L.) Lam. 等，这些种类和 *Vitaliana* 属、*Douglasia* 属及羽叶点地梅属组成一单系群。在这一支内，羽叶点地梅属位于基部，其次是北点地梅。根据分支图(图 1－3)，对‘点地梅群’具有两种处理方式：一是将所有 4 个属都并为一个更为广义的点地梅属；二是将第一支划分为 2－4 个属：除羽叶点地梅属之外，将北点地梅及其代表的种类作为 1 个独立的属处理或者和其余种类都作为 1 个属，如 *Douglasia* 属处理。单种属羽叶点地梅属成立的主要特征是蒴果盖裂；*Vitaliana* 这一单种属成立的主要特征是具有花柱异长(heterostylous)的黄色花(Ferguson，1972)；而 *Douglasia* 则是因为具有等长花柱(homostylous)的粉红色花以及主要分布在北美而成立为 1 个独立的属(Pax & Knuth，1905)。除羽

叶点地梅属的蒴果盖裂容易区别外，其余形态特征在点地梅属中都能发现，并且存在很大的变异。显然，本文研究结果表明过去定义的 *Vitaliana* 属和 *Douglasia* 属都要进行合并处理，也不支持将两个属的种类单独作为1个属处理，区别于欧洲分布的点地梅属种类（Anderberg & Stahl，1995；Anderberg & Kelso，1996；Kovtonyuk，2002）。

除这两大主要分支外，裂叶组与点地梅组的东北点地梅和大苞点地梅两个种的系统位置在两套序列的单独和结合分析上存在差异。裂叶组在形态上被认为是点地梅属中最为原始的类群，而点地梅组来源于裂叶组（Pax & Knuth，1905；胡启明，杨永昌，1986）。尽管3种分析得出的结论有异，但它们始终位于靠近基部的位置，因此与形态学的研究结果基本一致，点地梅组的大苞点地梅与裂叶组聚成较为稳定的一支，这也印证了基于形态的推测，但点地梅组并非单系群，北点地梅始终位于‘羽叶点地梅-点地梅支’内，并在各套数据分析中得到较高的支持。

染色体研究支持分子证据表现的演化趋势：如在‘羽叶点地梅-点地梅支’中，羽叶点地梅为二倍体，2n = 20，9对m染色体，1对sm染色体；北点地梅仍然是二倍体，但多了1对st染色体；这一支上欧洲的其他种类基本上都是四倍体，具有2对以上的st染色体，而 *Douglasia* 的种类还从四倍体通过非整倍性下降形成次生基数 x = 19（2n = 38）。裂叶组种类的染色体倍性和核型与羽叶点地梅类似，为比较原始的类型。在‘点地梅支’中，分化越晚的种类，如西藏点地梅、垫状点地梅等，核型越不对称、倍性越高（Nakata et al.，1997；Sarkar，1988；黄荣福，2003；孔宏智，刘建全，1999；以及我们未发表的资料）。

3.2 “点地梅群”植物的生物地理学和垫状形态的趋同演化

形态学分析表明点地梅属的祖先可能是多年生、类似裂叶组中的种类（胡启明，杨永昌，1986），这些种类主要分布在我国西南地区。该属可能很快就在青藏高原东部横断山地区分化出‘羽叶点地梅-点地梅支’和‘点地梅支’。“羽叶点地梅-点地梅支’的祖先可能是多年生，但很快分化出类似羽叶点地梅和北点地梅的一年生种类；北点地梅向北和西扩散，达到欧洲，进而在第四纪气候变寒冷的过程中演化出莲座状和垫状的多年生种类；北美种类的起源也应是来源于欧洲种类，可能与第四纪冰川发育和生境破碎，从而造成新物种分化和随冰川发育方向扩散有关（Comes & Kadereit，1998）。这一支上的原始多年生种类可能由于不适应高原隆升的环境剧烈变化，或者由于与新分化出的大量一年生种类之间存在生态位竞争，造成灭绝。羽叶点地梅在青藏高原核心面上的分布可能与该种植物在高原隆升之后重新‘活化”，能在高原上迅速找到适应其生长的生态位有关。该种5个居群的分支关系表明青海南部的居群位于基部，暗示该植物可能存在从南向北的扩散；从而也支持这种假设。“点地梅支’的分化较为完整地反映了点地梅属植物在青藏高原的分化和向其他地区的扩散过程。这一支原始的种类为多年生种类，然后演化出一或两年生种类，最后发展为莲座状和垫状的多年生种类。这种生活习性的反向进化（植物生活习性的进化一般是从多年生到一年生）与该属植物为适应青藏高原隆升后的强烈环境变化有关。由于环境严酷，采用多年生莲座状或者垫状的生活习性，能使其最大限度地在极端环境生存（王为义，黄荣福，1990）。这一支的部分演化支向西扩散，达到中亚，在中亚形成一个次生分化中心，最后达到欧洲。

青藏高原东部地区横断山脉作为北温带分布型属的一个分化中心，其中的部分物种

分化后再向欧洲或者北美北温带地区扩散,已经有较为详细的多次论述(如李锡文和李捷,1993)。他们指出这一扩散过程有多条途径,如从横断山经过中亚到欧洲、从亚洲北部到欧洲以及从东亚到北美;并且指出对于不同的类群可能有不同的扩散途径,并且认为发生时间从第三纪一直持续到冰期结束。本文对点地梅属及其邻近属的初步研究不仅证实了这些假设和推理,还发现这一过程比以前假设的更为复杂:(1)同一属内地理分布上的扩散可以是在不同的系统发育支上进行(图1-3);(2)同一系统发育支的扩散可以在不同的时间内进行(图4)。

粗略的分化时间估计表明'点地梅群'植物的分化可能是在第三纪中新世以来才进行的(图4)。这一时期也是青藏高原环境变迁最为强烈的时期。青藏高原在距今约4000万年前开始隆升,并且存在从南向北阶段式的隆升过程(Chung et al., 1998)。尽管整个高原什么时候整体抬升到目前的高度还存在争议,但是在2200万年左右、1500万年左右、800-700万年和340-170万年前发生了几次大的隆升,并使部分地区抬升到目前的海拔高度(Spicer et al., 2003; Guo et al., 2002; 施雅风等, 1998; Harrison et al., 1992)。图4估算的分歧时间表明,青藏高原高山组特别是垫状种类的分化可能主要是在750万年内,与高原最后两次隆升的造山运动、形成高海拔的山地可能有一定关系;而在欧洲地区相对较晚,在250万年内才开始强烈分化,则可能与第三纪末至第四纪的冰期气候反复波动有关。由于分子钟标记存在较大误差,同一类群不同的分子片段标记也可能得到不同的分歧时间,并且可能相差2倍以上(如利用ITS和*trn*L-F标记的*Inga* Mill.最早的分化时间)(Richardson et al., 2001a, b)。但是,如果能与地质证据、其他类群的标记结果部分吻合,则能说明可能在某一时期确实存在物种的快速分化。我们对青藏高原地区其他类群的标记也表明,在第三纪中新世1000万年以来在该地区可能存在由于环境剧烈变迁造成的物种快速分化(王玉金,刘建全,2004; Liu et al., 2001, 2002a, b),但这些类群物种强烈分化的时间存在一定区别,这可能是由于使用的DNA片段和进化速率不同而造成的标记误差,或者是由于物种本身的生境需求不同造成分化的时间不同所引起的。

本文的研究结果表明,垫状这一特殊形态在点地梅属内是多次发生的,这些垫状种类之间没有系统发生上的联系,它们分别在青藏高原和欧洲山地为适应高原隆升和伴随的气候变化趋同演化而来。而部分种类(如垫状点地梅和唐古拉点地梅)在青藏高原核心地区大面积的成片分布,造成十分独特的生态景观,则是因为该类植物能较好适应青藏高原的特殊生境(王为义,黄荣福,1990),特别是可能与青藏高原全新世晚期冰期结束后,气候变冷并保持至今有关。在第三纪末上新世至第四纪,北半球存在冰期与间冰期气候的反复交错变化,植物种类和植被对这种温度的变迁反应也同样存在于青藏高原地区(施雅风等, 1998)。在冰期,温度下降,可能部分垫状种类曾经大面积扩散;但在间冰期,如在全新世早中期,温度比现在高2-3 ℃,青藏高原东北部还存在森林景观(唐领余,沈才明,1996),喜寒冷的这些垫状植物只能向更高的山地退缩。欧洲的垫状种类只是在高山的高海拔地区局部分布,并未如在青藏高原形成方圆几公里到几十公里的成片景观,则可能是因为冰期结束后不存在像高原一样具有大面积寒、旱的生长环境的缘故。

3.3 种内和近缘种居群间的形态变异和遗传分化

西藏点地梅是点地梅属形态变异最大的一个种,叶两面从无毛到密毛,植株的根状茎

从短、形成密丛到根状茎长、叶丛间有明显间距形成疏丛。粗毛点地梅与西藏点地梅的区别是前者叶片密被短硬毛和腺毛，叶2－3型，内层叶明显长于外层叶；后一区别点在形态多态性的西藏点地梅中也能发现。ITS、*trn*L-F序列和两套分子证据的联合分析都表明粗毛点地梅是西藏点地梅的一个极端类型。这一支5个居群的分支关系还表明最北边的祁连居群（Liu 712）位于最基部，其次是靠南的曲麻莱居群（Liu 974），最后是再靠南的3个居群（西藏江达，Liu 1264；青海囊谦，Liu 622；青海玉树，Liu 884）。这种分支关系表明该种可能在青藏高原的扩散过程中曾经存在过从北向南的拓展（colonization）历史。初步的形态分析发现，在叶的毛被方面，北边的居群被有密长毛，而南边的居群毛较少，或者具有硬毛或腺毛，而羽叶点地梅则是南边的居群位于最基部。这种格局表明，青藏高原核心面上的植物拓展可能与每一种植物的起源地、盛冰期时的避难所以及近期环境变化有关。西藏点地梅的起源地或者避难所可能靠近北边，而羽叶点地梅由于其起源较早，应在东部的横断山地区；由于全新世青藏高原突然变冷和干燥，一些森林和灌木退缩（唐领余，沈才明，1996），形成新的未被占领、适合于这两种植物发展的生态位，从而使它们分别从北向南和从南向北向这一地区拓展。当然，这种假设需要从两种植物的整个分布区进行群体取样，利用群体遗传学的方法检测其单倍型（haplotype）的分布和演化关系加以证实（Comes & Kadereit，1998）。欧洲两种垫状的点地梅种类也具有完全不同的冰期避难点和冰后期的拓展方向（Schönswetter et al.，2003）。

雅江点地梅和高原点地梅是青海垫状植物分布面积最大的两个种，在部分地区成片分布，形成十分独特的垫状植物生态景观。它们最主要的区别是前者叶两面无毛，仅上部边缘具缘毛；后者叶两面被毛，内层叶毛较密。实际上在野外经常发现一些居群在形态上为二者之间的过渡类型，难以判断应放在哪一种。但在特定居群内，我们发现植物的形态特征十分稳定。本文的研究发现，居群间的遗传分化十分明显。但是它们拥有的遗传变异聚类不能与根据形态特征所做的初步的两个种类划分相一致。这可能都与垫状植物具有较长的生活史，类似于克隆植物，不仅造成居群间遗传分化大，而且保留的形态变异多有关。这个种复合体（species complex）的遗传与形态分化值得从居群水平进行深入的群体遗传学研究，这不仅对研究这两个种的分类地位具有重要参考价值，而且也能深入探讨垫状植物的遗传变异规律。

参考文献

Anderberg A A, Stahl B. 1995. Phylogenetic interrelationships in the order Primulales, with special emphasis on the family circumscriptions. Canadian Journal of Botany 73: 1699－1730.

Anderberg A A, Kelso S. 1996. Phylogenetic implications of endosperm cell wall morphology in *Douglasia*, *Androsace*, and *Vitaliana* (Primulaceae). Nordic Journal of Botany 16: 481－486.

Chung S L, Lo C H, Lee T Y, Zhang Y Q, Xie Y W, Li X H, Wang P L. 1998. Diachronomous uplift of the Tibetan Plateau starting 40 Myr ago. Nature 394: 769－773.

Comes H P, Kadereit J W. 1998. The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. Trends in Plant Science 3: 432－438.

Doyle J J, Doyle J L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material. Phytochemical Bulletin 19: 11－15.

Farris J S, Källersjö M, Kluge A G, Bult C. 1995. Testing significance of incongruence. Cladistics 10: 315－319.

Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783－791.

Ferguson I K. 1972. *Vitaliana* and *Androsace*. In: Tutin T G, Heywood V H, Burges N A, Moore D M, Valentine D H, Walters S M, Webb D A eds. Flora Europaea. Cambridge: Cambridge University Press. 3: 20-23.

Gaut B S, Muse S V, Clark W D, Clegg M T. 1992. Substitution rate comparisons between grasses and palms: synonymous rate differences at the nuclear gene *Adh* parallel rate differences at the plastid gene *rbc*L. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 93: 10274-10279.

Gaut B S, Muse S V, Clark W D, Clegg M T. 1993. Relative rates of nucleotide substitution in the chloroplast genome. Molecular Phylogenetics and Evolution 2: 89-96.

Goldman N. 1993. Statistical tests of models of DNA substitution. Journal of Molecular Evolution 36: 182-198.

Guo Z T, Ruddiman W F, Hao Q Z, Wu H B, Qiao Y S, Zhu R X, Peng S Z, Wei J J, Yuan B Y, Liu T S. 2002. Onset of Asian desertification by 22 Myr ago inferred from loess deposits in China. Nature 416: 159-163.

Harrison T M, Copeland P, Kidd W S F, Yin A. 1992. Raising Tibet. Science 255: 1663-1670.

Hewitt G M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. Nature 405: 907-913.

Hu Q-M (**胡启明**). 1994. On the geographical distribution of the Primulaceae. Journal of Tropical and Subtropical Botany (**热带亚热带植物学报**) 2 (4): 1-14.

Hu Q-M (**胡启明**), Yang Y-C (**杨永昌**). 1986. A revision of the *Androsace* L. in China. Acta Phytotaxonomica Sinica (**植物分类学报**) 24 (4): 108-120.

Huang R-H (**黄荣福**). 1994. The cushion plant in the HoH XIL area of Qinghai. Acta Botanica Sinica (**植物学报**) 36: 130-137.

Huang R-H (**黄荣福**). 2003. Karyological studies of 6 species of *Androsace* (Primulaceae) in China with reference to their systematic significance. Acta Boreali-Occidentalia Sinica (**西北植物学报**) 23: 1700-1712.

Huelsenbeck J P, Ronquist F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. Rochester: Department of Biology, University of Rochester.

Kong H-Z (**孔宏智**), Liu J-Q (**刘建全**). 1999. Karyomorphology of the genus *Pomatosace* Maxim. (Primulaceae). Acta Phytotaxonomica Sinica (**植物分类学报**) 37: 445-450.

Kovtonyuk K. 2002. Seed surface sculpture in relation to taxonomy of the genera *Androsace* and *Douglasia* (Primulaceae) of the northern Asia. Botanicheskiî Zhurnal SSR Leningrad, Moskva 87 (1): 57-63.

Li B-S (**李渤生**), Zhang J-W (**张经纬**), Wang J-T (**王金亭**), Chen W-L (**陈伟烈**). 1985. The alpine cushion vegetation of Xizang. Acta Botanica Sinica (**植物学报**) 27: 311-317.

Li X-W (**李锡文**), Li J (**李捷**). 1993. A preliminary floristic study of the seed plants from the region of Hengduan Mountain. Acta Botanica Yunnanica (**云南植物研究**) 15: 217-231.

Liu J-Q, Chen Z-D, Lu A-M. 2001. A preliminary study of the phylogeny of the Swertiinae (Gentianaceae) based on ITS data. Israel Journal of Plant Science 43: 301-308.

Liu J-Q, Chen Z-D, Lu A-M. 2002a. Molecular evidence for the sister relationship of the eastern Asia-North American intercontinental species pair in the *Podophyllum* group (Berberidaceae). Botanical Bulletin of Academia Sinica 43: 147-154.

Liu J-Q, Gao T-G, Chen Z-D, Lu A-M. 2002b. Molecular phylogeny and biogeography of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Nannoglottis* (Asteraceae). Molecular Phylogenetics and Evolution 23: 307-325.

Maddison D R. 1991. The discovery and importance of multiple islands of most-parsimonious trees. Systematic Zoology 40: 315-328.

Martins L, Oberprieler C, Hellwig F H. 2003. A phylogenetic analysis of Primulaceae s.l. based on internal transcribed spacer (ITS) DNA sequence data. Plant Systematics and Evolution 237: 75-85.

Maximowicz C J. 1881. Diagnoses plantarum novarum asiaticarum 4. In: Ruprecht F J F ed. Die ersten botanischen Nachrichten über das Amurland. Erste Abtheilung. Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences de Saint-Pétersburg 27: 499-500.

Melchior H. 1964. Primulales. In: Engler A ed. Syllabus der Pflanzenfamilien. Berlin-Nikolassee: Gebruder Borntraeger. 389-394.

Nakata M, Wu Q A, Kurokawa S. 1997. Cytological studies on Chinese plants introduced from Yunnan Province. I. Karyomorphology of some species of *Primula* and *Androsace* (Primulaceae). Bulletin of the Botanic Gardens of Toyama 2: 1-15.

Pax F, Knuth R. 1905. Primulaceae. In: Engler A ed. Das Pflanzenreich. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann. 27: 1-386.

Posada D, Crandall K A. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. Bioinformatics 14: 817-818.

Rambaut A, Charleston M. 2000. TreeEdit version 1.0 alpha 10. (http://evolve.zoo.ox.ac.uk/software/TreeEdit/TreeEdit.html).

Richardson J E, Pennington R T, Pennington T D, Hollingsworth P M. 2001a. Rapid diversification of a species-rich genus of neotropical rain forest trees. Science 293: 2242–2245.

Richardson J E, Weitz F M, Fay M F, Cronk Q C B, Linder H P, Reeves G, Chase M W. 2001b. Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa. Nature 412: 181–183.

Sang T, Crawford D J, Stuessy T F, Silva M O. 1995. ITS sequences and the origin and evolution of the genus *Robinsonia* (Asteraceae) on the Juan Fernandez Island. Systematic Botany 20: 55–64.

Sanderson M J. 1997. A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. Molecular Biology and Evolution 14: 1218–1231.

Sarkar A K. 1988. Primulaceae—its evolution and assessment in status as judged through cytotaxonomy. Feddes Repertorium 99 (3–4): 113–132.

Schönswetter P, Tribsch A, Schneeweiss G M, Niklfeld H. 2003. Disjunctions in relict alpine plants: phylogeography of *Androsace brevis* and *A. wulfeniana* (Primulaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 141: 437–446.

Shi Y-F (**施雅风**), Li J-J (**李吉均**), Li B-Y (**李炳元**). 1998. Uplift and Environmental Changes of Qinghai-Tibetan Plateau in the late Cenozoic (**青藏高原晚新生代隆升与环境变化**). Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press.

Spanowsky W. 1962. Die Bedeutung der Pollenmorphologie für die Taxonomie der Primulaceae-Primuloideae. Feddes Repertorium 65: 149–214.

Spicer R A, Harris N B, Widdowson M, Herman A B, Guo S, Valdes P J, Wolfe J A, Kelley S P. 2003. Constant elevation of southern Tibet over the past 15 million years. Nature 421: 622–624.

Swofford D L. 2003. PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*, and other methods), Version 4.0b 10. Sunderland: Sinauer Associates.

Taberlet P T, Gielly L, Patou G, Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology 17: 1105–1109.

Tang L-Y (**唐领余**), Shen C-M (**沈才明**). 1996. Late Cenozoic vegetational history and climatic characteristics of Qinghai-Xizang Plateau. Acta Micropalaeontologica Sinica (**微体古生物学报**) 13: 321–337.

Thompson J D, Gibson T J, Plewinak F, Jeanmougin F, Higgins D G. 1997. The Clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research 25: 4876–4882.

Trift I, Källersjö M, Anderberg A A. 2002. The monophyly of *Primula* (Primulaceae) evaluated by analysis of sequences from the chloroplast gene *rbc*L. Systematic Botany 27: 396–407.

Wang W-Y (**王为义**), Huang R-H (**黄荣福**). 1990. Studies on morpho-ecological adaptabilities to the alpine ecological environments in cushion plants on Qinghai-Xizang Plateau. Acta Biologica Plateau Sinica (**高原生物学集刊**) 9: 13–26.

Wang Y-J (**王玉金**), Liu J-Q (**刘建全**). 2004. A preliminary investigation on the phylogeny of *Saussurea* (Asteraceae: Cardueae) based on chloroplast DNA *trn*L-F sequences. Acta Phytotaxonomica Sinica (**植物分类学报**) 42: 136–153.

White T J, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M, Gelfand D, Sninsky J, White T eds. PCR Protocols: A Guide to Methods and Application. San Diego: Academic Press. 315–322.

Wilson M A, Gaut B, Clegg M T. 1990. Chloroplast DNA evolves slowly in the palm family. Molecular Biology and Evolution 7: 303–314.

Yang Y-C (**杨永昌**), Hang R-H (**黄荣福**). 1990. *Androsace* L. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (**中国植物志**). Beijing: Science Press. 59 (1): 141–201.

Ying T-S (**应俊生**), Zhang Y-L (**张玉龙**). 1994. The Endemic Genera of Seed Plants of China (**中国种子植物特有属**). Beijing: Science Press. 484–487.

Zhang L B, Comes H P, Kadereit J W. 2001. Phylogeny and quaternary history of the European montane/alpine endemic *Soldanella* (Primulaceae) based on ITS and AFLP variation. American Journal of Botany 88: 2331–2345.